



107  
24  
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
CUAUTITLAN

EVALUACION DE LA TECNICA DE INSEMINACION  
ARTIFICIAL CUERNO POR CUERNO EN VAQUILLAS  
SUPEROVULADAS DE RAZA HOLSTEIN Y PARDO  
SUIZO EN LA OBTENCION DE  
EMBRIONES TRANSFERIBLES.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:  
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA  
P R E S E N T A :  
VAZQUEZ LOPEZ FRUCTUOSO

DIRECTOR DE LA TESIS: M.V.Z. ARTURO A. TREJO GONZALEZ



CUAUTITLAN IZCALLI, EDO. DE MEXICO

1991



Universidad Nacional  
Autónoma de México



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## INDICE

|                               |    |
|-------------------------------|----|
| OBJETIVO.....                 | 1  |
| INTRODUCCION.....             | 2  |
| MATERIAL.....                 | 6  |
| METODOLOGIA.....              | 7  |
| RESULTADOS Y DISCUSIONES..... | 9  |
| CONCLUSIONES.....             | 15 |
| LITERATURA CONSULTADA.....    | 16 |

**OBJETIVO:**

**EVALUAR LA TECNICA DE INSEMINACION ARTIFICIAL CUERNO POR CUERNO, SOBRE EL PORCENTAJE DE FERTILIDAD Y EL NUMERO DE EMBRIONES TRANSFERIBLES AL UTILIZAR ESTA TECNICA EN VAQUILLAS SUPEROVULADAS, COMPARANDOLA CON EL METODO TRADICIONAL DE INSEMINACION ARTIFICIAL.**

## INTRODUCCION:

La transferencia de embriones (TE) bovinos es una técnica de manipulación genética que permite incrementar la capacidad reproductiva de una vaca o vaquilla (1). Por el hecho de garantizar un gran número de progenie, especialmente cuando se trata de donantes jóvenes, la técnica de TE puede reducir el intervalo entre generaciones (1) y se pueden probar las hembras con mayor rapidez (3).

También permite incorporar nuevas razas a regiones donde las leyes prohíben la importación de animales (10). En algunos casos se pueden obtener terneros de vacas y/o vaquillas infértiles debido a enfermedades, traumatismos o edad avanzada (1). Sin embargo la TE requiere una cierta inversión inicial y presenta el inconveniente de la variabilidad en la respuesta a los tratamientos superovulatorios (10).

La TE consiste básicamente en un tratamiento hormonal a las hembras donantes para inducir la maduración y ovulación de un gran número de ovocitos (superovulación). Estos ovocitos después de ser fertilizados por medio de la inseminación artificial (IA) son colectados de la hembra donante y transferidos a vacas nodrizas o receptoras quienes conducirán la preñez hasta su término (1).

Dentro de la TE está incluida la técnica de IA, por medio de la cual los ovocitos liberados se fertilizaran. La IA también es una técnica de manipulación genética (1) que permite aprovechar el potencial genético de sementales probados, reducir el riesgo

de enfermedades venereas, experimentar nuevas cruzas sin que sea necesario comprar un semental y útil en el caso de sementales con problemas de exceso de peso o en el aparato locomotor (3,10).

Existen varios esquemas de IA para vacas que han sido superovuladas, como puede ser el de dar dos inseminaciones a intervalos de 12hs después de iniciado el estro (7). Ya que se ha observado que debido a la superovulación las vacas ovulan en diferentes tiempos durante las 24hs después de comenzado el estro (7). Sin embargo Schiewe et al (7) demostraron que utilizando dos dosis de semen de buena calidad 24 horas después de iniciado el estro se obtenían 89.5% de fertilización y 74.9% de embriones transferibles recolectados.

Elsden (1) observó que se obtenían similares porcentajes de fertilidad y de embriones transferibles utilizando una dosis a las 12hs y otra a las 24hs después de detectado el estro.

Tradicionalmente la IA se ha realizado depositando el semen en el cuerpo del útero y los resultados de fertilidad pueden estar influenciados por la incapacidad del técnico inseminador para colocar el aplicador en el cuerpo del útero (11). Esta dificultad está asociada al tamaño relativamente pequeño de esta porción (alrededor de 1.5 cm) (11). Senger (8) demostró que al intentar colocar el semen en el cuerpo uterino solo el 40% del total de los intentos fué exitoso y de 25 - 30% fueron inseminaciones cervicales. Otro aspecto que puede influenciar los resultados de fertilidad, son el número de espermatozoides que se eliminan en el moco cuando el semen es depositado en el cuerpo

uterino. Williams et al (11) encontraron un 83% de células espermáticas en el moco de la vagina cuando el semen era depositado en el cuerpo del útero. Nelson et al (6) determinaron la distribución de células espermáticas después de una IA tradicional y encontraron 52% de células espermáticas en las descargas de moco, 14% en el lavado vaginal antes de sacrificar a los animales, 2.3% en vagina, 0.55% en cervix y 0.66% en oviducto para un total de  $72 \pm 5.4\%$  de espermatozoides recolectados. Gallagher et al (2) demostraron que no hay influencia del sitio de inseminación con el número de espermatozoides que se encuentran en vagina después de la IA.

Existe una técnica no tradicional de IA, que consiste en depositar la mitad de la dosis de semen en un cuerno y el resto en el otro cuerno. Senger (8) menciona un 10% de aumento de la concepción en vaquillas no superovuladas utilizando esta técnica de IA. Los inseminadores recibieron un entrenamiento y reentrenamiento, tanto como para realizar la técnica de IA cuerno por cuerno como para la IA en cuerpo uterino. Antes del reentrenamiento los inseminadores sólo fueron 53% efectivos en la colocación del aplicador en el cuerpo del útero y después del reentrenamiento fueron un 95% efectivos. Seis meses después fueron juzgados por la técnica de rayos X y habían declinado al 75%. Posteriormente al realizar el reentrenamiento para la técnica cuerno por cuerno los inseminadores se mantuvieron en un 96% sin decremento durante los seis meses que se realizó la técnica. Esta diferencia se debe a que es más fácil de palpar la ubicación de la punta del aplicador dentro del cuerno uterino

que en el cuerpo del mismo (B).

Zavos (13) informa que al depositar toda la dosis de semen en el cuerno ipsilateral al ovario que presentaba el folículo obtuvo un 57.1% de concepción a diferencia de la IA tradicional (en cuerpo uterino) en donde obtuvo 35.8% de concepción. Williams et al (11.12) publican un 48.1% de concepción para la IA en cuerpo uterino y 49.3% para la IA cuerno por cuerno, de donde deducen que ambas técnicas son efectivas.

En el presente trabajo se evaluarán ambas técnicas de IA (cuerno por cuerno o en cuerpo uterino) sobre el porcentaje de fertilidad y el número de embriones transferibles en vaquillas superovuladas. De esta manera, si la inseminación cuerno por cuerno aumenta el índice de concepción (B) entonces aumentará el porcentaje de embriones transferibles, disminuyendo por lo tanto la presencia de ovocitos a la recolección.



## MATERIAL.

### DROGAS.

Hormona Foliculo Estimulante  
Prostaglandina F2 (Lutalyse)  
Xilocaina (sol 2%)  
Solucion de alcohol al 70%

### MEDIOS DE CULTIVO.

Dulbecco-fosfato salino mas 1% de suero bovino a 37°C

### TUBERIA:

Cateter Foley de calibre francés del número 18 o 24  
Adaptador en Y  
Tuberia Tygon  
Filtros EmCon

### EQUIPO:

Jeringas desechables de 5ml, 10ml y 20ml.  
Agujas hipodérmicas del número 18 y 20.  
Termo de almacenamiento de semen.  
Termo para descongelar semen.  
Pistola para inseminar.  
Fundas para inseminar.  
Tijeras.  
Hojas de resurar.  
Dilatador.  
Varilla de acero inoxidable.  
Cajas de Petri cuadrículadas.  
Baño María.  
Microscopio estereoscópico.

#### METODOLOGIA:

Se trabajó un grupo experimental con tratamiento superovulatorio de 80 vaquillas (Holstein y Pardo Suizo) y un grupo control con el mismo número de animales en el Centro de Mejoramiento Genético de LICONSA localizada en Tepetzotlián Estado de México. Después del tratamiento superovulatorio e inducción al estro, ambos grupos fueron inseminados a estro detectado por observación directa dos horas al amanecer y dos horas al anochecer. Se inseminaron con una dosis de semen comercial a las doce horas y otra a las veinticuatro horas después de detectado el estro. El semen en pajillas de 0.5ml se descongeló a 37°C durante 30 segundos.

Los animales del grupo experimental se seleccionaron al azar del total de las inseminaciones a realizarse cada día y el mismo técnico inseminó a ambos grupos. El técnico inseminador fue evaluado por un Médico Veterinario Zootecnista experimentado.

A las vaquillas del grupo control se les depositó el semen en el cuerpo del útero y a las vaquillas del grupo experimental se les depositó la mitad de la dosis de semen en el cuerno uterino derecho y la otra mitad en el cuerno uterino izquierdo.

Siete días después de la inseminación las donadoras fueron recolectadas por el método no quirúrgico descrito por Elsden (1).

La búsqueda, manipulación y evaluación de embriones se lleve

acabo bajo los criterios descritos por Elsdén (1).

Los resultados de recuperación de embriones transferibles, degenerados y ovocitos fueron evaluados estadísticamente por el método de análisis de varianza, ajustados con las tablas de arcoseno.

RESULTADOS Y DICUSIONES:

En el cuadro número uno que presenta el porcentaje de embriones degenerados recuperados de vaquillas inseminadas en el cuerpo uterino y en el cuerno uterino y superovuladas con cuatro diferentes dosis de FSH, no hubo ninguna diferencia significativa ( $P > 0.05$ ) entre los dos grupos.

En el cuadro número dos donde se muestra el porcentaje de ovocitos recuperados de vaquillas inseminadas en el cuerpo uterino y en el cuerno uterino y superovuladas con cuatro diferentes dosis de FSH, se observa menor porcentaje de ovocitos recuperados al inseminar en cuerno uterino en las cuatro diferentes dosis de FSH comparado con el porcentaje de ovocitos recuperados al inseminar en cuerpo uterino en donde es mayor.

Esto hace pensar que que si se disminuye el porcentaje de ovocitos recuperados aumentará el porcentaje de embriones transferibles, sin embargo en el cuadro número tres que muestra el porcentaje de embriones buenos transferibles recuperados de vaquillas inseminadas en cuerpo uterino y en el cuerno uterino y superovuladas con cuatro diferentes dosis de FSH, no hay diferencia significativa para ambos grupos. Esta variación puede deberse a que se trabajó con animales superovulados, en donde la respuesta del ovario a una dosis de FSH es impredecible para cada animal (5). Otro factor que pudo intervenir en esta variación fue la recolección, ya que ésta la realizaron seis diferentes técnicos.

Estos resultados donde se observa que la IA cuerno por

cuerno y la IA en cuerpo uterino son igualmente eficaces, los obtuvieron Williams et al (12) pero en animales no superovulados. Contrariamente a esto, Senger (8) demostró que la IA cuerno por cuerno aumenta el 10% de concepción en vacas no superovuladas, donde destaca una capacitación intensiva de los inseminadores para realizar esta técnica.

Zavos (13) igualmente demuestra un aumento en el porcentaje de concepción al depositar la dosis completa de semen en el cuerno ipsilateral al ovario que presenta el folículo en vacas no superovuladas.

Hunter (5) presenta en un trabajo una justificación muy importante para inseminar en cuernos uterinos, menciona que existe un reservorio activo de espermatozoides en la porción caudal del oviducto, en donde dos horas antes de la ovulación por medio de grandes cantidades de estrógenos del folículo maduro y prostaglandinas, los espermatozoides se desplazan a la unión ampula istmo que es el sitio de fertilización. Esto hace pensar que una IA profunda (en cuernos uterinos) asegure una mayor cantidad de espermatozoides en el sitio reservorio aumentando la probabilidad de fertilización, aunque esto nos puede dar origen a la condición letal de la poliespermia. Hunter (5) señala que es más común que la baja fertilidad se asocie a una insuficiencia espermática en el oviducto que a un exceso.

Puede haber cierto rechazo por parte de los inseminadores al utilizar la técnica de IA en cuernos uterinos, por el riesgo de lastimar la pared uterina o introducir alguna infección y

provocar metritis o piometras, pero la recompensa puede ser un aumento en el porcentaje de fertilización y con ello un aumento en el número de crías para el ganadero. Sin embargo en base a los resultados obtenidos en este trabajo estas ventajas no pueden ser aprovechadas en vacas superovuladas.

CUADRO NUMERO 1. PORCENTAJE DE EMBRIONES DEGENERADOS RECUPERADOS DE VAQUILLAS INSEMINADAS EN EL CUERPO UTERINO Y EN EL CUERNO UTERINO Y SUPEROVULADAS CON CUATRO DIFERENTES DOSIS DE FSH.

| DOSIS FSH (mg) | I. A. EN CUERNO UTERINO | I. A. EN CUERPO UTERINO |
|----------------|-------------------------|-------------------------|
|                | N-8                     | N-14                    |
| 24             | X-36.26                 | X-37.69                 |
|                | DE-33.43                | DE-32.89                |
|                | N-12                    | N-16                    |
| 28             | X-30.96                 | X-28.07                 |
|                | DE-28.63                | DE-38.84                |
|                | N-35                    | N-38                    |
| 32             | X-19.91                 | X-16.77                 |
|                | DE-28.72                | DE-22.25                |
|                | N-22                    | N-23                    |
| 36             | X-25.65                 | X-27.16                 |
|                | DE-29.41                | DE-31.00                |

CUADRO NUMERO 2. PORCENTAJE DE OVOCITOS RECUPERADOS DE VAQUILLAS INSEMINADAS EN EL CUERPO UTERINO Y EN EL CUERNO UTERINO Y SUPEROVULADAS CON CUATRO DIFERENTES DOSIS DE FSH.

| DOSIS FSH (mg) | I. A. EN<br>CUERNO UTERINO | I. A. EN<br>CUERPO UTERINO |
|----------------|----------------------------|----------------------------|
|                | N=8                        | N=14                       |
| 24             | X=2.07<br>DE=5.86          | X=9.76<br>DE=16.94         |
|                | N=12                       | N=16                       |
| 28             | X=5.55<br>DE=19.22         | X=14.56<br>DE=28.21        |
|                | N=35                       | N=38                       |
| 32             | X=8.66<br>DE=19.59         | X=17.10<br>DE=31.54        |
|                | N=22                       | N=23                       |
| 36             | X=6.78<br>DE=21.72         | X=7.85<br>DE=14.22         |



CUADRO NUMERO 3. PORCENTAJE DE EMBRIONES BUENOS RECUPERADOS DE VAQUILLAS INSEMINADAS EN EL CUERPO UTERINO Y EN EL CUERNO UTERINO Y SUPEROVULADAS CON CUATRO DIFERENTES DOSIS DE FSH.

| DOSIS FSH (mg) | I. A. EN CUERNO UTERINO | I. A. EN CUERPO UTERINO |
|----------------|-------------------------|-------------------------|
|                | N=8                     | N=14                    |
| 24             | X-49.1                  | X-45.35                 |
|                | DE-34.80                | DE-32.98                |
|                | N=12                    | N=16                    |
| 28             | X-63.45                 | X-57.33                 |
|                | DE-32.92                | DE-41.54                |
|                | N=35                    | N=38                    |
| 32             | X-48.52                 | X-49.51                 |
|                | DE-40.62                | DE-37.61                |
|                | N=22                    | N=23                    |
| 36             | X-51.61                 | X-51.86                 |
|                | DE-37.53                | DE-60.67                |

**CONCLUSION:**

Bajo las condiciones en las que se realizó este trabajo, se concluye que la inseminación artificial cuerno por cuerno no aumento el índice de fertilización de embriones en vaquillas superovuladas comparandola con la inseminación artificial en cuerpo uterino, en donde ambas técnicas tuvieron los mismos resultados.

#### LITERATURA CONSULTADA:

- 1.- Elsdon, R.P.; Seidel, G.E. Jr.: Procedimientos para la recolección, congelación y transferencia de embriones bovinos. Laboratorio de reproducción animal, Colorado State University, Fort Collins 80523 1986.
- 2.- Gallager, G.R.; Senger, P.L.: Concentrations of spermatozoain in Bovine vagina following seminal deposition in the uterine horns or uterine body. Journal Animal Science. 65 (suppl. 1): 400 (1987).
- 3.- Hafez, E.S.E.: Reproducción e inseminación artificial en animales. 4a Edición. Interamericana. México, D.F. (1987)
- 4.- Hawk, H.W.; Conley, R.J.: Attempts to improve fertilization rates in superovulating cows. Journal Animal Science. 65 (suppl.1):400 (Abstr) (1987).
- 5.- Hunter, R.H.F.: Towards 100% fertilisation in inseminated cows, with particular reference to the site of sperm storage. Animal Breeding Abstracts. 52:1-3 (1984).
- 6.- Nelson, E.P.; Aalseth, C.H.: Sperm discharge and distribution within the cow's reproductive tract after A.I. Journal Animal Science. 65 (suppl. 1):407 (1987).
- 7.- Schiewe, M.C.; Looney, C.R.; Johnson, C.A.; Hill, K.G. and Godke, R.A.: Transferable embryo recovery rates following different insemination schedules in superovulated beef cattle. Theriogenology 28 (4): 395-406 (1987).
- 8.- Senger, P.L.: "Horns breeding" changes the site of semen deposition. Embryo Technology. August 25 (1988).
- 9.- Senger, P.L.; Becher, W.C.: Cornual insemination increase conception rate in dairy cattle. Journal Animal Science 65 (suppl. 1):400 (1987).
- 10.- Sorensen, A.M. Jr.: Reproducción animal, principios y prácticas. Mc. Graw Hill. México 1982.
- 11.- Williams, B.L.; Gwazdauskas, F.C.: Impact of site of inseminate deposition and enviromental factor that influence reproduction of dairy cattle. Journal Dairy Science. 71:2278-2283 (1988).
- 12.- Williams, B.L.; Gwazdauskas, F.C.: Effect of site of insemination inseminator and environment on conception to artificial insemination. Journal Animal Science. 65 (suppl. 1):399 (1987).

13.- Zavaa, P.M; Johns, J.T.; Site of semen deposition and subsequent conception in synchronized and artificially inseminate in beef heifers. Journal Animal Science. 61 (suppl.1):37 (Absts) (1985).